

생약제제의 이화학적 품질평가에 관한 연구 小青龍湯의 분석

박종희*, 정지형, 박상일, 박성수

부산대학교 약학대학

Studies on Physical and Chemical Quality Evaluation of Crude Drugs Preparations Analysis of So Cheong Ryong Tang

Jong Hee Park*, Jee Hyung Jung, Sang Il Park and Seong Soo Park

College of Pharmacy, Pusan National University, Pusan, 609-735, Korea

Abstract—The famous prescription of So Cheong Ryong Tang (小青龍湯) in Chinese herb medicine, which has been used for the treatment of common cold, influenza, asthmatic bronchitis, and bronchial asthma and, is being commercially produced in the form of decoction. However, the storage problem for this dosage form remains unsettled. The quantitative changes of the major constituents, at different temperature and time course, were examined employing HPLC and GC. Cinnamaldehyde, cinnamic acid, ephedrine, albiflorine, paeoniflorin, benzoic acid, glycyrrhizin, and liquiritin were chosen as phytochemical markers. The content of cinnamaldehyde significantly decreased when stored at increased temperature, while that of benzoic acid has increased. By overall consideration of the present experimental data, it was suggested that most constituents are considerably stable when preserved below freezing temperature.

Keywords—So Cheong Ryong Tang; quantitative; evaluation; constituent; HPLC; GC.

산업사회가 발전하므로서 사람들은 건강에 대한 관심이 고조되고, 따라서 생약제제의 수요가 증가하고 있다. 생약은 그 특징의 하나로서 다양한 성분을 함유하고 있으므로 복합생약제제는 더욱 많은 종류의 성분을 함유하고 있다고 하겠다. 또한 생약은 천연물로부터 가공되었으므로 기원이 같다고 해도 산지, 재배방법, 채집시기 및 조제방법에 따라서 품질에 상당한 차이가 있다. 이러한 이유 때문에 생약제제에 대한 품질평가법은 제대로 확립되어 있지 않은

상태이다. 대한약전 및 대한약전의 한약규격집에도 형태학적 및 관능적 방법으로 평가하거나 중요한 알칼로이드, 사포닌, 정유 및 회분 등을 측정하는 것에 국한하여 수록되어 있다. 그러나 최근에 생약 및 생약제제에 대한 품질평가의 수단으로서 지표성분에 의하여 이화학적으로 생약의 품질을 평가하여 생약제제의 품질을 균일화하려는 노력이 계속되고 있다.¹ 10) 저자들은 한방제제로서 기관지천식, 기관지염, 비염 등의 치료에 널리 사용되고 있는 소청룡탕¹¹⁻¹²⁾을 대상으로 하여 보존온도와 시간적 변화에 따른 주요 성분의 안정성에 관하여 검토하였다. 소청룡탕 중의

*교신저자 : Fax 051-513-6754

구성생약에 대한 품질평가법으로 HPLC를 이용하여 소청룡탕 중의 cinnamaldehyde, cinnamic acid (이상 桂枝성분), paeoniflorin, benzoic acid (이상 芍藥성분), glycyrrhizin, liquiritin (이상 甘草 성분), GC를 이용하여 소청룡탕 중의 ephedrine (麻黃성분) 등 8가지 성분에 관하여 내부표준법에 의한 동시정량법을 확립하였다. 이 방법은 소청룡탕의 추출액을 전혀리 없이 그대로 시료로 사용하는 간편하고 신속한 미량분석법으로서 소청룡탕에 대한 품질평가법의 하나로서 이용될 수 있을 것으로 생각된다. 본 실험에서는 소청룡탕의 보존시 온도와 시간적 변화에 따라서 위의 8종의 지표성분에 대한 함량의 변화를 HPLC 및 GC의 방법으로 평가하였다.

재료 및 방법

소청룡탕의 조제 - 대한약전 규격생약 麻黃 3g, 芍藥 3g, 細辛 3g, 乾薑 1.5g, 甘草 3g, 五味子 1.5g, 半夏 6g, 대한약전의 규격 생약 桂枝 3g (성인 1일 복용량; 부산대학교 약학대학 생약학 교실 소장 품)¹³⁾을 취하여 정제수 500 ml와 함께 약탕기에서 가열하였다. 물의 양이 약 절반까지 되도록 가열한 다음 식기 전에 여과하여 갈색병에 넣었으며, 각각 25℃, 40℃ 및 -20℃의 조건에 보존하였다.

기기 - HPLC는 島津製作所製 LC 6A, GLC는 島津 GC-5A를 사용하였다.

표준품 및 시약 - 표준품 albiflorine, paeoniflorin, cinnamaldehyde 및 liquiritin은 일본 富山醫科藥科大學 難波恒雄 명예교수로부터 분양받아서 사용하였으며, glycyrrhizin, cinnamic acid, benzoic acid 및 ephedrine은 Sigma사 제품을 사용하였다. MeOH, AcOH는 특급시약을 CH₃CN은 액체크로마토그래피용을 사용하였다.

소청룡탕 중의 albiflorine, paeoniflorin, benzoic acid, liquiritin의 정량 - 소청룡탕 煎液을 -20℃, 실온, 40℃에 각각 따로 보관하여 1개월 및 3개월 지나서 시료로 사용하였다. 시료를 정확히 2 ml 취하고 내부표준물질로서 *p*-hydroxyacetophenone의 에탄올용액(0.025 → 50)을 정확히 2 ml가하고 10분 동안 초음파를 작동시킨 후 여과한 것을 시료 용액으로 하였다. 표준물질로서 albiflorine, paeoniflorin,

benzoic acid 및 liquiritin을 각각 0.05 mg, 0.4 mg, 0.5 mg, 0.3 mg을 MeOH 50 ml에 용해한 것에 내부표준액을 정확히 2 ml가하여 표준 용액으로 하였다.

[분석조건: column: TSK-GEL 410(2.1×500 mm), flow rate: 0.6 ml/min, chart speed: 2.0 mm/min, pressure: 100 kg/cm², eluent: CH₃CN-H₂O-AcOH(14:86:0.6), UV: 240 nm, range: 0.32-0.16 Auf.]

소청룡탕 중의 cinnamic acid 및 cinnamaldehyde의 정량 - 소청룡탕 40 ml를 정확히 취하고, 1N HCl 3 ml를 가하여 *n*-hexane 30 ml로 3회 추출하였다. 추출액을 합하여 anhydrous sodium sulfate로 건조한 후 저온에서 농축하여 정확히 10 ml로 하였다. 그 중에서 1 ml를 정확히 취하고 내부표준물질로서 aspirin의 에탄올용액(0.05 → 100)을 2 ml가하여 시료용액으로 하였다. 표준물질로서 cinnamic acid 및 cinnamaldehyde를 각각 0.015 mg, 0.10 mg을 에탄올 10 ml에 용해한 것에 내부표준액을 정확히 2 ml가하여 표준용액으로 하였다. [분석조건: column: TSK-GEL 410(4.6×250 m), flow rate: 1.0 ml/min, chart speed: 2.0 mm/min, pressure: 70 kg/cm², eluent: 28% CH₃CN-1.3% CH₃COOH(1:1), UV: 270 nm, range: 0.04-0.16 Auf.]

소청룡탕 중의 glycyrrhizin의 정량 - 소청룡탕 20 ml를 정확히 취하고, 내부표준물질로서 *p*-hydroxybenzoic acid butylester의 에탄올용액(0.06 → 100)을 2 ml가하여 시료용액으로 하였다. 표준물질로서 glycyrrhizin ammonium salt 5 mg을 50% 에탄올 100 ml에 용해한 것에 내부표준액을 정확히 2 ml가하여 표준용액으로 하였다.

[분석조건: column: TSK-GEL 410(4.6×250 mm), flow rate: 1.1 ml/min, chart speed: 2.0 mm/min, pressure: 70 kg/cm², eluent: 2% CH₃COOH-37% CH₃CN(1:1), UV: 254 nm, range: 0.08-0.16 Auf.]

소청룡탕 중의 ephedrine의 정량 - 소청룡탕 70 ml를 정확히 취하고, 암모니아시액 5 ml를 가하여 에테르 30 ml로 3회 추출하였다. 추출액을 합하여 anhydrous sodium sulfate로 건조한 후 완전히 농축하여 무수초산 및 피리딘을 각각 2 ml씩 가하여 90℃에서 30분간 가열하였다. 내부표준물질로서 *p*-

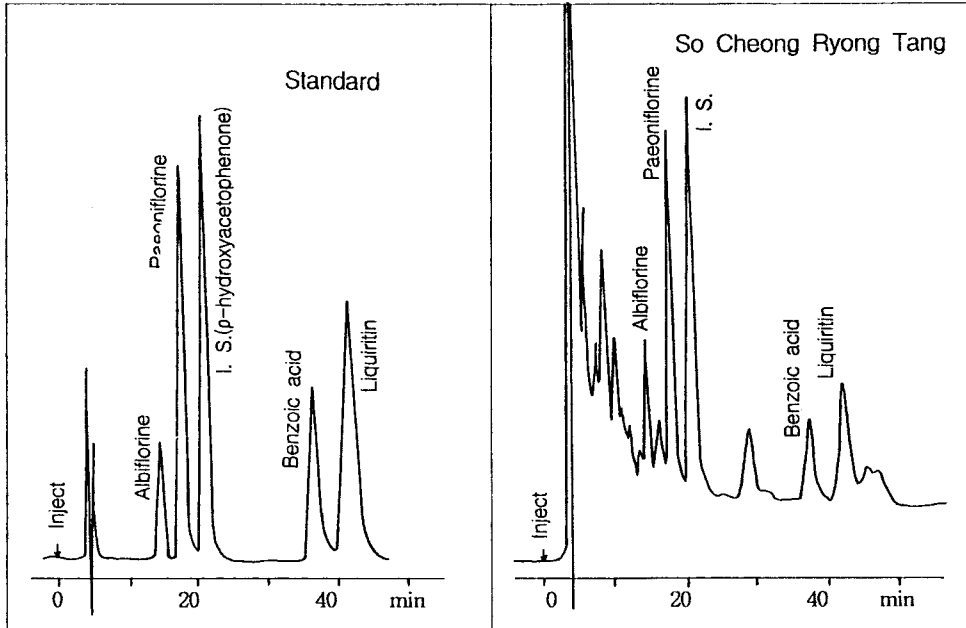


Fig. 1. Chromatogram of albiflorine, paeoniflorine, liquiritin and benzoic acid in "So Cheong Ryong Tang" extract. Analytical conditions: Column:TSK-GEL 410 (2.1 ϕ ×500 mm), Flow rate: 0.6 ml/min, Chart speed:2.0 mm/min, Pressure:100 kg/cm², Eluent:CH₃CN:H₂O:AcOH (14:86:0.6), UV:240 nm, Range: 0.32~0.16 AUs.

benzylphenol의 chloroform용액(0.05→100) 2 ml를 정확히 가하여 시료로 하였다. 표준물질로서 dl-HCl ephedrine 4 mg을 물 10 ml에 용해한 것을 같은 방법으로 조작하여 표준용액으로 사용하였다. [분석조건: column:silicone DC-1, 5% OF-1 (30 cm), carrier gas:N₂, flow rate:50 ml/min, injection temp.:230℃, column temp.:180℃, detector:FID, sensitivity:128×10³]

결과 및 고찰

1. 본실험에서 소청룡탕의 함량 분석은 총 8종의 성분을 대상으로 하여 HPLC 및 GC에 의하여 그 함량이 분석되었으며, 먼저 albiflorine, paeoniflorin, liquiritin 및 benzoic acid에 관한 HPLC 분석조건과 chromatogram을 Fig. 1에 나타내었으며, albiflorine은 가장 먼저 용출되었다. Fig. 2에서는 소청룡탕 중 cinnamic acid와 cinnamaldehyde 성분들의 HPLC 분석조건과 여기서 얻어진 HPLC chromatogram을 나타내었으며, Fig. 3에는 glycyrrhizin에 대한 HPLC 분석조건과 그

chromatogram을 나타내었다. Ephedrine은 GC에서 분석하였으며, 분석조건과 chromatogram은 Fig. 4에 표시하였다.

2. 소청룡탕 추출물을 8종의 지표물질로서 초기에 함량을 평가하였을 때 glycyrrhizin이 가장 많이 함유되어 있었으며, 두번째로 paeoniflorin이 많이 함유되어 있는 것으로 나타났다(Table I). Cin-

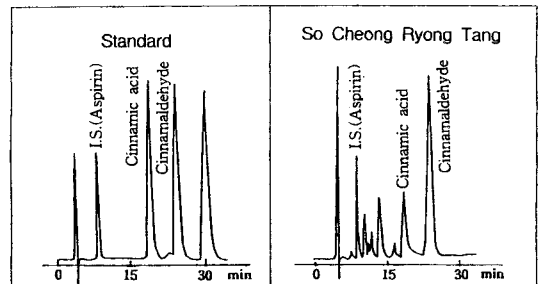


Fig. 2. Chromatogram of cinnamic acid and cinnamaldehyde in "So Cheong Ryong Tang" extract. Analytical conditions: Column:TSK-GEL 410 (4.6 ϕ ×250 mm), Eluent:28% CH₃CN-1.3% CH₃COH(1:1), Flow rate:1.0 ml/min, Pressure:70 kg/cm², UV 270 nm, Chart speed:2.0 mm/min, Range: 0.04~0.016 AUs.

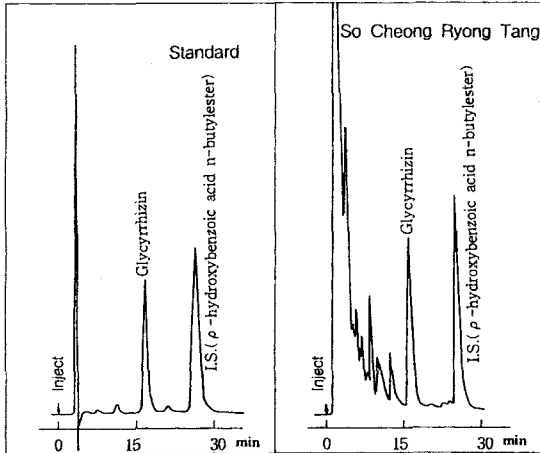


Fig. 3. Chromatogram of glycyrrhizin in "So Cheong Ryong Tang" extract. Analytical conditions: Column:TSK-GEL 410 (4.6φ×250 mm). Flow rate: 1.1 ml/min, Eluent:2% CH₃COOH-37% CH₃CN(1:1). Pressure:70 kg/cm², UV:254 nm. Range:0.08~0.16 Auf.

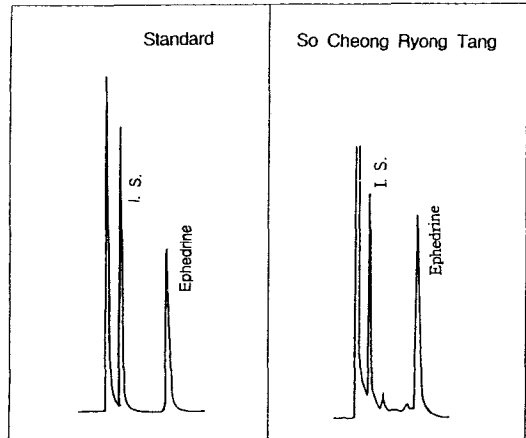


Fig. 4. Chromatogram of ephedrine in "So Cheong Ryong Tang" by G.C. Analytical conditions: Column:Silicone DC-1, 5% OF-1 (30 cm), Carrier gas:N₂ 50 ml/min, Column temp:180℃, Detector:FID, Sensitivity:128×10³.

amic acid와 cinnamaldehyde는 각각 0.35±0.06 mg/daily dosage 및 4.48±0.05 mg/daily dosage로 나타나 비교적 적은 양이 함유되어 있는 것으로 나타났다. Cinnamaldehyde는 -20℃에서는 1개월, 3개월이 지나도 함량의 변화가 별로 없었지만, 25℃ 및 40℃에서 보존된 시료는 초기 함유량(4.48±0.05 mg/daily)보다 훨씬 적은 함유량을 나타내었다. 특히 3개월 40℃ 조건하의 것은 1.06±0.45 mg/daily dosage를 나타내어 가장 적은 cinnamaldehyde의 함유량을 나타내었다. 따라서 cinnamaldehyde는 높은 온도에서 함유량의

변화가 있음을 알 수 있고, 이러한 조건하에서는 시간이 경과할 수록 그 함유량이 더욱 감소한다고 생각된다. 이와 같은 현상은 cinnamaldehyde가 aldehyde관능기를 갖고 있으므로 높은 온도에서 보다 용이하게 산화되기 때문이라고 생각된다. Cinnamic acid의 경우는 -20℃에서 보존하면 함유량의 변화가 거의 없었다. 그러나 25℃ 및 40℃의 조건에서는 1개월과 3개월의 경우 함유량 변화의 유의성이 인정되었다. 이와 같은 cinnamic acid의 함유량 증가는 부분적으로 cinnamaldehyde의 산화로 부터 유래하는 것으로 추측되었다. Ephedrine은 시간과 온도에 의한 그 함유량의 변화가 극히 미약

Table I. Quantitative variations of major constituents of So Cheong Ryong Tang in different storage conditions (unit:mg/daily dosage)

Compound	initial	1 month			3 month		
		F	r.t.	40℃	F	r.t.	40℃
Cinnamaldehyde	4.48±0.05 ^a	4.65±0.11	3.97±0.07*	1.64±0.05*	4.76±0.12	3.05±0.08*	1.06±0.45*
Cinnamic acid	0.35±0.06	0.35±0.04	0.42±0.04	0.41±0.03*	0.34±0.05	0.42±0.06	0.45±0.05*
Ephedrine	16.7±0.73	17.7±0.83	16.2±0.59	17.1±0.05	17.0±0.41	18.0±0.38	18.1±0.03
Albiflorine	8.8±0.07	8.3±0.06	8.7±0.09	8.3±0.03	8.7±0.11	8.5±0.09	8.4±0.04
Paeoniflorine	94.6±1.24	92.8±1.43	94.0±1.61	94.9±1.51	95.7±0.98	92.2±0.76	86.9±0.14*
Benzoci acid	23.1±1.02	23.4±0.84	23.9±1.08	26.2±0.96*	23.2±0.53	23.4±0.48	36.5±1.12*
Glycyrrhizin	144.2±1.73	147.9±1.26	145.8±1.53	140.6±1.73	140.4±1.15	136.2±1.51	134.7±1.49
Liquiritin	42.3±1.34	47.1±0.81	47.0±1.02	44.3±0.94	42.0±0.87	42.7±0.68	45.5±1.27

Abbreviations, F:Freezing at -20℃, r.t.:room temp., 40℃:incubation at 40℃

*Significantly different from the initial group (p<0.05)

^aValues are mean±S.D. for five measurements.

하였는데, 이것은 alkaloid화합물인 ephedrine의 화학적 안정성과 관련이 있는 것으로 추측되었다. Albiflorine, paeoniflorin, glycyrrhizin 및 liquiritin의 경우는 온도와 시간의 경과에 의한 함량의 변화가 크다고 할 수 없지만, paeoniflorin의 경우 3개월 40℃처리군에서는 유의성있는 함유량의 감소가 나타났다. Benzoic acid는 3개월 40℃처리군에서 그 함량이 현저히 증가하였다. 이상의 결과를 전반적으로 고찰하면 40℃에서 3개월 보존한 것은 대부분 초기의 함량과 큰 차이를 나타내었다. 그러나 -20℃에서 보관하는 것은 큰 함량의 차이를 나타내지 않았다. 40℃에서 1개월 보존한 것도 같은 온도에서 3개월 보존한 것과 비슷한 결과를 나타내지만, 그 차이는 40℃에서 3개월 보존한 것 만큼 크게 나타내지 않았다.

결 론

1. 소청룡탕을 물로 추출하여 액제로 보관할 때에 높은 온도에서 보관할수록 성분의 변화가 크게 나타난다. 이 조건에서 장기간 보관할 수록 주요 성분의 함량은 더욱 크게 변화한다. Cinnamaldehyde와 cinnamic acid는 aldehyde와 carboxylic acid의 관계에 있고, paeoniflorin과 benzoic acid는 에스테르와 carboxylic acid관계에 있으므로 그 함량의 증감과 서로 관련이 있는 것으로 추측된다. Ephedrine, glycyrrhizin, liquiritin과 같이 물질의 안정성이 크다고 판단되는 화합물의 경우는 그 함량의 변화가 크게 일어나지 않았다.

2. 소청룡탕의 물추출액을 냉동하여 보관한다면 불안정한 화합물의 변화를 어느 정도 방지할 수 있다고 생각되므로 약효도 지속적으로 유지할 수 있다고 생각된다.

인용문헌

1. Shimizu, M., Hachimoto, T., Ishikawa, S., and Morita, N. (1979) Analysis of constituents in crude drug by high-speed liquid chromatographic analysis of drugs. *Yakugaku Zasshi* 99: 432-435.
2. Nitta, A., Tani, S., Sakamaki, E. and Saito, Y. (1984) On the source and evaluation of benzoic acid. *Yakugaku Zasshi* 104: 592-596.
3. Akada, Y., Kawano, S. and Tanase, Y. (1979) High speed liquid chromatographic analysis of drugs. *Yakugaku Zasshi* 99: 858-862.
4. Namba, T. (1977) The commentary on Chinese crude drugs containing saponins. *Wakan-Yaku* 10: 1-12.
5. Namba, T., Yoshizaki, M., Tomimori, T. and Hase, J. (1974) Fundamental studies on the crude drugs. *Yakugaku Zasshi* 94: 252-257.
6. 浅川直樹, 服部禎一, 上山政悟 (1979) 芍薬エキス中の paeoniflorin의 고속液體 크로마토그래피による定量. *藥學雜誌* 99: 598-601.
7. 西澤 信, 山岸 喬, 野中源一郎, 西岡五夫 (1984) 芍薬中のガロタンニンの定量. *藥學雜誌* 104: 1244-1250.
8. 鹿野美弘, 縦 青, 小松健一 (1991) 漢方エキス製劑の品質評價について. *藥學雜誌* 111: 32-35.
9. 細田勝子, 井本芳則, 常風潤一, 野口衛 (1990) 漢方製劑の品質評價. *藥學雜誌* 110: 755-758.
10. 難波恒雄, 吉崎正雄 (1977) 人參製劑の品質評價について. *Wakan-Yaku* 10: 66-72.
11. 厚生省薬務局 (1984) 一般用漢方處方の手引き, 143. 藥業時報社, 東京.
12. 大塚敬節 (1985) 臨床應用 傷寒論解説, 211. 創元社, 大阪.
13. 矢數道明 (1982) 臨床應用 漢方處方解説, 300. 創元社, 大阪.

(1998년 2월 6일 접수)